

УДК 616.831—009.11—053.2—089.843:611—013.7/.8—018.8:616.832.9—008.8:612.015

Содержание нейромедиаторов в субарахноидальном ликворе больных детским церебральным параличом и влияние на него трансплантації ЭНТ

Цымбалюк В.И., Васильева И.Г., Пичкур Л.Д., Чопик Н.Г.,
Цюбко О.И., Пичкур Н.А., Галанта Е.С.

Інститут нейрохірургії им. акад. А.П.Ромоданова АМН України, г. Київ, Україна

Ключевые слова: детский церебральный паралич, дофамин, гаммааминомасляная кислота.

Детский церебральный паралич (ДЦП) — сложная патология, связанная с нарушением двигательной сферы. Клинические формы ДЦП формируются в зависимости от уровней повреждения интегральных структур, отвечающих за регуляцию мышечного тонуса и формирование двигательных стереотипов [2,14]. Уточнение звена, выпавшего из системы моторного контроля, является важным для определения стратегии и тактики восстановительных мероприятий при ДЦП.

В настоящее время имеется достаточное количество доказательств в пользу того, что в двигательных расстройствах и нарушении мышечного тонуса важную роль играют патологические изменения в системе стрио — паллидо — таламокортичального моторного контроля [9]. Стрио—паллидарное звено этой системы реализует свою контролирующую функцию через нигростриарный дофамин. Прямой путь регуляции таламокортичального контроля начинается от нейронов скорлупы, опосредуется гаммааминомасляной кислотой (ГАМК) и субстанцией Р и проецируется непосредственно в моторную зону внутреннего сегмента бледного шара и черной субстанции [10]. Непрямой путь, эффект которого реализуется через ГАМК и энкефалин, начинается от нейронов скорлупы и оказывает влияние на выходящие ядра базальных ганглиев через последовательность соединений, включающих внешний сегмент бледного шара и субталамическое ядро [10]. В целом измененная проводимость через прямой путь ведет к гипокинезии, в то время как снижение проводимости через непрямой путь приводит к гиперкинезии, а также к соответствующим изменениям мышечного тонуса [9,10,11]. Очевидно, что целостность ГАМК-эргических про-

водящих путей на разных уровнях в системе моторного контроля и интеграция дофаминергических связей на уровне скорлупы имеют существенное значение для регуляции таламокортичальных взаимодействий [12,15,16].

Трансплантация эмбриональной нервной ткани (ЭНТ) — перспективный метод, уже в настоящее время дающий хорошие результаты при лечении заболеваний центральной нервной системы [5]. Применение этого метода при ДЦП требует тщательного анализа характера повреждения мозговых структур. На основании результатов определения содержания дофамина и ГАМК в субарахноидальном ликворе можно детализировать уровень повреждения интеграции функциональных структур мозга, объективизировать результаты оперативного вмешательства, а также корректировать повторные нейротрансплантации.

Материалы и методы. Анализ уровня нейромедиаторов в субарахноидальном ликворе проводили у 19 пациентов со спастическим тетрапарезом и у 7 — со спастико-гиперкинетической формой ДЦП.

Влияние трансплантации ЭНТ на уровень содержания нейромедиаторов в субарахноидальном ликворе было изучено у 6 больных.

Приготовление образцов. В образцы субарахноидального ликвора добавляли стабилизатор K2S2K5 (1:10); в образцы для определения уровня катехоламинов — стабилизатор и дигидроксибензиламин в качестве внутреннего стандарта .

Определение уровня катехоламинов проводили методом высокоеффективной жидкостной хроматографии на микроколоночном хроматографе “Миллихром” [1] с электрохимическим детектированием (750 мВ на рабочем электроде)-

Условия хроматографирования: колонка Silasorb C-8 (2×60 мм); 100 мл подвижной фазы содержало 0,03М КН₂РО₄, 0,03 М лимонную кислоту, 50 мг октилсульфоната натрия, 10 мг Na₂—ЭДТА, pH 4,86, а также 15 мл метанола; скорость потока — 100 мкл/мин. Для расчета концентрации катехоламинов в образцах находили отношение высоты пиков к высоте пика внутреннего стандарта известной концентрации.

Определение уровня ГАМК в ликворе больных ДЦП проводили по описанному методу [13], кислоту очищали колоночной хроматографией на Kowex 50. Определение содержания ГАМК основано на образовании высокофлуоресцентного продукта при реагировании с ортофталевым альдегидом. Флуоресценция развивалась в течение 30 мин, измерение производили при 335/455 нм.

Результаты и их обсуждение. Анализ уровня нейромедиаторов в субарахноидальном ликворе у пациентов с различными формами ДЦП показал, что он варьирует в очень широких пределах: от значений в несколько раз ниже нормального уровня [7,8] до значений, в 10 раз и более его превышающих.

Предположение о разрыве интегральных связей как причине повышенного уровня нейромедиаторов в субарахноидальном ликворе представляется наиболее вероятным. Анализ результатов, полученных у каждого больного, позволяет детализировать уровень нарушения интегральных связей в системе организации моторного контроля на уровне кора — базальные ганглии — таламус — кора. Так, повышенное содержание дофамина указывает на повреждение интеграции на уровне скорлупы и нарушение соотношения активности прямого и непрямого путей паллиодорадиомиметического ингибирования [11]. Повышенное содержание ГАМК в ликворе свидетельствует о нарушении интеграции на уровне скорлупы — бледный шар или бледный шар — таламус [13,16]. Сниженный уро-

вень дофамина указывает на его дефицит в дофаминергических ядрах среднего мозга, в частности, в черной субстанции [17]. Необходимо также учитывать, что повреждение на разных уровнях интеграции может иметь ведущее или второстепенное значение для формирования клинической формы ДЦП. Так, повреждение пирамидных путей при наличии всего комплекса нарушений на уровне стрио — паллидо — таламических взаимодействий будет иметь ведущее значение в формировании клинических проявлений ДЦП, что тем более подтверждает необходимость тщательного анализа всех поврежденных звеньев.

С учетом высказанных выше предположений больных со спастическим тетрапарезом (табл. 1) можно подразделить на три подгруппы (100 пг/мл дофамина и 10 нг/мл ГАМК приняты как достоверно превышающие норму [1,7]): больные подгруппы А — с высоким уровнем дофамина и ГАМК; Б — с высоким уровнем ГАМК и уровнем дофамина в пределах нормы; В — с нормальным содержанием дофамина и ГАМК.

Основываясь на современных представлениях о значении стрио — паллидо — таламокортикального контроля в осуществлении движений и регуляции мышечного тонуса можно утверждать, что у большинства пациентов со спастическим тетрапарезом наблюдается нарушение интеграции на уровне скролупы и бледного шара (подгруппа А); существенно также количество больных, у которых основные нарушения присутствуют на уровне бледного шара (подгруппа Б); есть также больные, у которых спастичность определяется нарушениями на других уровнях интеграции (подгруппа В).

Больные со спастико-гиперкинетической формой ДЦП составляют значительно меньшую группу (Табл. 2). Больных с этим диагнозом также можно разделить на две подгруппы: больные подгруппы А — с высоким уровнем дофа-

Таблица 1. Уровень нейромедиаторов в субарахноидальном ликворе больных со спастическим тетрапарезом (дофамин, пг/мл; ГАМК, нг/мл)

Таблица 2. Уровень нейромедиаторов в субарахноидальном ликворе больных со спастико-гиперкинетической формой ДЦП (дофамин, пг/мл; ГАМК, нг/мл)

Больные подгруппы А (n=4)		Больные подгруппы Б (n=3)		
Нпп	Дофамин	ГАМК	Нпп	Дофамин
1—й	508	7,3	1—й	86
2—й	305	5,8	2—й	74
3—й	220	6,8	3—й	40
4—й	130	14		

мина и уровнем ГАМК в пределах нормы и больные подгруппы Б — с уровнями исследованных нейромедиаторов в пределах нормы.

Обнаруженные показатели у больных подгруппы А указывают на нарушение интеграции дофаминергических связей черной субстанции со склерупой, последствиями чего могут быть изменение соотношения активности прямого и непрямого путей регуляции и развитие гиперкинезов [11].

Трансплантация ЭНТ, как известно [3], оказывает положительное влияние на метаболизм мозга благодаря заместительному эффекту трансплантированного материала, а также посредством стимулирования синтеза цитокинов, передающих и усиливающих нейротрофическое действие трансплантата, результатом чего является рост отростков и синаптогенез [6].

Сравнение результатов исследования содержания дофамина и ГАМК в ликворе больных со спастико — гиперкинетическими формами ДЦП до и после трансплантации (табл. 3) показывает, что после трансплантации ЭНТ у

Таблица 3. Уровень нейромедиаторов в субарахноидальном ликворе больных с ДЦП до и после трансплантации ЭНТ (дофамин, пг/мл; ГАМК, нг/мл)

Больные, № п/п	Сроки исследования	Диагноз	Эффект положительный	Дофамин	ГАМК
1-й	до ТЭНТ	Спастический тетрапарез	+	188 121	10 13
2-й	после ТЭНТ	Спастический тетрапарез	+	1500 395	25 14
3-й	до ТЭНТ	Спастический тетрапарез	+	213 102	39 18
4-й	после ТЭНТ	Спастический тетрапарез	+	137 90	41 14
5-й	до ТЭНТ	Спастический тетрапарез	+	1274 74	34 20
6-й	после ТЭНТ	Спастический тетрапарез	+	144 590	22,4 20

большинства из них наблюдается снижение уровня нейромедиаторов в ликворе.

Одним из объяснений обнаруженной тенденции является то, что при трансплантации ЭНТ увеличивается степень интегрированности мозговых структур и восстанавливается специфическая переработка афферентного информационного потока [4]. В этом случае, по нашему мнению, в ликворе должно снижаться содержание нейромедиаторов, специфичных для восходящих интегральных систем мозга. Восстановление интегральных связей должно также приводить и к снижению уровня ГАМК в ликворе.

Таким образом, на основании исследования содержания дофамина и ГАМК в ликворе больных с ДЦП можно определить степень поражения интегральных связей в кортико-, стрио-, палидо-, таламокортикальной петле, а также оценить влияние на их восстановление трансплантации ЭНТ.

Выводы. 1. Обнаружен широкий спектр изменений в содержании нейромедиаторов, что отражает уровень и степень поражения интегральных взаимодействий, обеспечивающих регуляцию тонуса и движения.

2. Нейротрансплантация приводит к снижению содержания нейромедиаторов в субарахноидальном ликворе, что свидетельствует о восстановлении интегральных взаимодействий пораженных структур мозга.

Список литературы

- Бонецкий А. А. Федоров В.И. Определение катехоламинов плазмы крови методом ВЭЖХ на микроколоночном хроматографе «Милихром»// Лаб. дело. —1989. —№ 4. — С. 21 —25.
- Завалишин И.А., Бархатова В.П. Спастичность // Журн. невропатологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. —1997. —№ 3.—С. 68—70.
- Изменения церебрального метаболизма при черепномозговой травме под влиянием трансплантации эмбриональной нервной ткани./ Зозуля Ю.А., Цымбалюк В.И., Васильева И.Г. и др. // Журн. АМН Укр.—1998.— Т4, № 4.—С. 597—608.
- Комплексное лечение пациентов с паркинсонизмом с использованием живых фетальных клеток/ Миронов Н.В., Шмырев В.И. и др. / / Трансплантация фетальных тканей и клеток. БЭБМ. —1998.—Т.126.—Прил.1.—С. 63—68.
- Предварительная оценка результатов метода трансплантации эмбриональных тканей в неврологии / Волошин П.В., Грищенко В.И., Черненков В.Г. и др. // Трансплантация

- ция фетальных тканей и клеток. БЭБМ. — 1998.—Т.126.—Прил.1.—С. 78—79.
6. Трансплантиация фетальных тканей и клеток человека // Васильев Н.В., Коляда Т.И., Волянский Ю.Л. и др. —М.,1996.—С. 28—30.
 7. Хмелевский Ю.В., Усатенко О.К. Основные биохимические константы человека в норме и патологии .—К.: Здоров'я,1987.—160 с.
 8. Цветанова Е. М. Ликворология. — К.: Здоров'я, 1986.—370 с.
 9. Alexander G.E., Crutcher M.K. Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing // Trends Neurosci. —1990. —V.13, N7. —P. 266—271.
 10. Chevalier G., Keniau J.M. Kisingibition as a basic process in the expression of striatal functions // Trends Neurosci. —1990. —V.13, № 7. —P. 277—280.
 11. Ke Long M.R. Primate models of movement disorders of basal ganglia origin //Trends Neurosci. —1990. —V.13, N7. —P. 281—285.
 12. Graybiel A.M. Neurotransmitters and neuromodulators in the basal ganglia// Trends Neurosci. —1990. —V.13, N7. —P. 244 —254.
 13. Lindgren S., Andrem M., Grabovsko M. A fluorimetric metod for determination of GABA in tissues following cation exchange chromatography acid condensation with o-phthalaldehyde // J. Neurol Transmission. —1982. —V.55, N4. —P. 243—252.
 14. Nelson K.B. Causes of cerebral palsy // Curr. крин. Pediatr.—1999. —V. 11, N6. — P. 487—491.
 15. Parent A. Extrinsic connections of the basal ganglia // Trends Neurosci.—1990. —V.13, N7. —P. 254—258.
 16. Smith A. K., Bolam J.P. The neural network of the basal ganglia as revealed by the study of synaptic connectios of identified neurones //Trends Neurosci.—1990. —V.13, N7. —P.259—265.
 17. Winkler C., Bentlage C., Nikkhah G., Samii M. Bjorklund A. Intranigral transplantants of GABA-rich striatal tissue induce behavioral recovery in the rat parkinson model and promote the effects obtained by intrastratial dopaminergic transplantants //Exp. Neurol. —1999. —V.155, N2. —P. 165—86.

Вміст нейромедіаторів у субарахноїдальному лікворі хворих на дитячий церебральний параліч та вплив на нього трансплантації ЕНТ

Цымбалюк В.І., Васильєва І.Г., Пічкур Л.Д., Чопік Н.Г., Цобко О.І., Пічкур Н.О., Галанта О.С.

Результати аналізу вмісту ГАМК та ДА у субарахноїдальному лікворі хворих на ДЦП із спастичним тетрапарезом та спастико-гіперкінетичною формою цього захворювання дозволили частково деталізувати рівень пошкодження інтеграції функціональних структур мозку. За цими показниками хворих із спастичним тетрапарезом було розділено на три підрозділи: А — із високим вмістом ГАМК та ДА (порушення інтеграції на рівні лушпини та блідої кулі); Б — із високим вмістом ГАМК та ДА в межах норми (порушення інтеграції на рівні лушпини); В — із вмістом ГАМК та ДА у межах норми (порушення на інших рівнях інтеграції). Хворих на ДЦП із спастико-гіперкінетичною формою було розділено на дві групи: А — із високим рівнем ДА та ГАМК у межах норми (порушення інтеграції дофамінергічних зв'язків чорної субстанції із лушпинкою; Б — із нормальним рівнем ДА та ГАМК (порушення інших рівнів інтеграції).

Трансплантація ембріональної нервової тканини у більшості випадків знижувала рівень нейромедіаторів у лікворі, що свідчило про відновлення інтегральних зв'язків у кортико-, стріо-, палідо-, таламокортиkalному контролі.

The neurotransmitters content in subarachnoid liquor in patients with infant cerebral palsy: influence of fetal tissue transplantation.

Tsymbaluk V.I., Vasiliyeva I.G., Pichkur L.K., Chopic N.G., Tsubko O.I., Pichkur N.A., Galantha E.S.

We analyzed the content of GABA and KA in subarachnoid liquor of patients with spastic hypercinesis form of JCP and patients with spastic tetraparesis to localise the damaged integration level in the brain functional structures. The results allowed us to devide the patients with spastic tetraparesis into three groups: —A with the high level of GABA and KA (suggested levels of damage are putamen and globus pallidus); B — with the high level of GABA and the normal level of KA (suggested level of damage is globus pallidus); C — with the normal content of GABA and KA (other levels of integration).

The patients with spastic hypercinesis form of JCP were devide into two groups: A — with the high level of KA and the normal level of GABA (suggested damage of KA — ergic connections of substantia nigra with the putamen); B — with the normal content of GABA and KA (other levels of integration).

The transplantation of embryonic neuron tissue in the most cases decreased the level of neurotransmitters in subarachnoid liquor, that indicate its influence on the processes of regeneration of damaged integrative connections in the cortex-, striatum-, globus pallidus- thalamocortical loop.